

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

①9 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENTAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑪ **DE 3424781 A1**

⑤1 Int. Cl. 3:  
**A61K 37/02**  
A 61 K 45/05

⑳ Aktenzeichen: P 34 24 781.5  
㉔ Anmeldetag: 5. 7. 84  
㉕ Offenlegungstag: 17. 1. 85

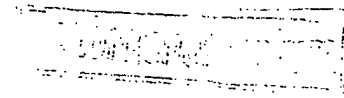
DE 3424781 A1

③0 Unionspriorität: ③2 ③3 ③1  
06.07.83 JP P122985-83

㉚ Anmelder:  
Nagai, Kineshirou, Tokio/Tokyo, JP

㉛ Vertreter:  
Vossius, V., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.; Vossius, D.,  
Dipl.-Chem.; Tauchner, P., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat.;  
Heunemann, D., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat.; Rauh, P.,  
Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 8000 München

㉚ Erfinder:  
gleich Anmelder



Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

⑤4 Verwendung von L-Carnosin zur Tumorbehandlung

Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von L-Car-  
nosin oder seinen physiologisch verträglichen Salzen zur  
Behandlung von Tumoren.

DE 3424781 A1

5 u.Z.: T 156 (Ra/kä)

5. Juli 1984

Case: OP 84147

Kineshiro Nagai

Tokyo, Japan

10

" Verwendung von L-Carnosin zur Tumorbehandlung "

P a t e n t a n s p r ü c h e

15

1. Verwendung von L-Carnosin oder einem physiologisch  
verträglichen Salz davon zur Behandlung von Tumoren.

2. L-Carnosin oder ein physiologisch verträgliches Salz da-  
von zur Anwendung bei der Behandlung von Tumoren.

20

3. Arzneimittel zur Anwendung bei der Behandlung von Tu-  
moren, gekennzeichnet durch einen Gehalt an L-Carnosin  
oder einem physiologisch verträglichen Salz davon als  
Wirkstoff.

25

4. Arzneimittel nach Anspruch 3, gekennzeichnet durch einen  
zusätzlichen Gehalt an einem den Aufbau einer Immunität  
beschleunigenden Stoff.

30

35

L

- 5 Die Entwicklung von Arzneimitteln mit Antitumorwirkung be-  
ruht gegenwärtig auf zwei Hauptüberlegungen. Eine ist das  
Konzept, daß Krebs durch Verhinderung der aktiven Biosynthe-  
se von Nucleinsäuren im Tumorgewebe gehemmt werden kann.  
Bleomycin (Nippon Kayaku), Mytomycin C (MMC) (Kyowa Hakko  
10 Kogyo) und 5-FU (Kyowa Hakko Kogyo) sind Beispiele für Arz-  
neistoffe, die auf dieser Grundlage in Japan entwickelt wur-  
den. Das andere Konzept ist eine nicht-spezifische aktive  
Immunisierungstherapie oder Medikamententherapie, die  
Immunität beschleunigt, wobei von der Immunität des Wirtes  
15 Gebrauch gemacht wird. Pycivanyl (OK-432) (Chugai Pharma-  
ceutical), Maruyama Vaccine (SSM) (Zeria Pharmaceutical) und  
Krestine (PSK) (Kureha Chemical, Sankyo) gehören zur zweitge-  
nannten Kategorie.
- 20 Alle Therapien mit diesen Arzneistoffen haben jedoch einen  
Nachteil, der das vollständige Erreichen des klinischen  
Zwecks verhindert. Im ersteren Fall sind Nebenwirkungen un-  
vermeidlich, da die die Nucleinsäuresynthese verhindernde  
Wirkung nicht auf Krebszellen beschränkt ist und deshalb die  
25 Nucleinsäuresynthese auch in anderem Gewebe verhindert wird.  
Bei der Immunität-beschleunigenden medikamentösen Therapie  
ist die Immunantwort nicht für Krebszellen spezifisch. Da  
die eine Immunität beschleunigenden Arzneistoffe nicht spe-  
zifisch und aktiv immuno-antigen sind, führt die Verabreichung  
30 von die Immunität beschleunigenden Arzneistoffen nur inner-  
halb der physiologischen Schwelle zu einer Immunantwort  
und Reaktionen über der Schwelle können nicht erwartet wer-  
den. Da sich Krebszellen über der Schwelle der Abwehrwirkung  
vermehren, müssen sie durch Erhöhung des Abwehrpotentials auf  
35 mehr als den gewöhnlichen physiologischen Wert und Aufrecht-  
erhaltung des Gleichgewichts von Immunität und Regenerierung

1 kontrolliert werden. Bisher war es in der Medizin ein wesentlicher Gesichtspunkt, daß Spontanheilung nicht gefördert werden kann.

5 Es wurde festgestellt, daß L-Carnosin eine die Granulation beschleunigende Wirkung besitzt. Grundlegende und klinische Untersuchungen haben nun gezeigt, daß durch L-Carnosin Spontanheilung gefördert werden kann, so daß das Wachstum von Tumoren unterbrochen wird.

10 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein wirksames Arzneimittel zur Behandlung verschiedener Tumorarten zu schaffen. Diese Aufgabe wird durch die Verwendung von L-Carnosin oder eines physiologisch verträglichen Salzes davon zur Behandlung von Tumoren gelöst.

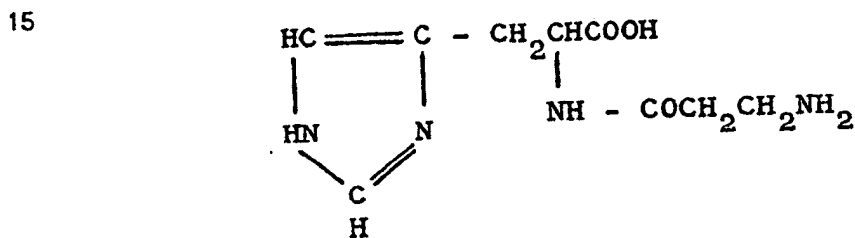
15 L-Carnosin ( $\beta$ -Alanyl-L-histidin) ist ein aus L-Histidin und  $\beta$ -Alanin bestehendes Dipeptid, das in Liebig's Fleischextrakt von Gulewitsch im Jahre 1900 entdeckt wurde. Es tritt in großen Mengen in den Skelettmuskeln verschiedener Säugetiere auf. Seine physiologische Bedeutung und pharmazeutische Eignung wurde von zahlreichen Forschungsgruppen untersucht. Bisher konnten aber kaum nennenswerte Schlüsse gezogen werden.

25 In der nicht vorveröffentlichten Japanischen Patentanmeldung 122 986/1983 ist beschrieben, daß mit Homocarnosin (L-Histidinyl- $\gamma$ -aminobuttersäure) die Systeme von experimentellem Krebs DDY-Sarcoma 180 (Sarcoma 180 ist ein von Komiyama, Department of Cancer and Pathology, Institute of Kitazato  
30 gehaltener Stamm) und von BALB/C-METH-A (METH-A ist ein im Central Laboratory of Daiichi Pharmaceutical gehaltener, der Hokkaido University gehörender Stamm) behandelt werden kann. Im Hinblick auf die Tatsache, daß diese beiden Stämme Krebsstämme mit positiver Proliferationsfähigkeit darstellen, die  
35 durch Immunität-beschleunigende Arzneistoffe kaum unter Kontrolle gehalten werden können, zeigt sich, daß diese neue Be-

1 handlung sehr wohl zur Krebskontrolle beim Menschen wirksam  
sein kann. Die Ergebnisse zeigen, daß Homocarnosin wirksam  
sowohl auf das gleiche als auch auf unterschiedliche  
Systeme der gleichen Art wirkt.

5 Es wurde nun festgestellt, daß L-Carnosin, das in der Seiten-  
kette seiner Strukturformel ein Kohlenstoffatom weniger als  
Homocarnosin aufweist, ähnliche Antitumorwirkungen wie Homo-  
carnosin besitzt.

10 L-Carnosin ist ein geschmack- und geruchlosesweißes kristalli-  
nes Pulver, das in Wasser leicht löslich ist, vom F. 250°C  
(Zers.);  $[\alpha]_D^{20} = 20,0^\circ$  (H<sub>2</sub>O). Es besitzt die folgende chemi-  
sche Strukturformel:



Der pH-Wert seiner wäßrigen Lösung beträgt 8,0 bis 8,5.

L-Carnosin kommt hauptsächlich im Skelettmuskel verschiede-  
ner Säuger in einer Menge von 0,1 bis 0,3 % vor. Es wird aus  
25 fleischlicher Nahrung in den menschlichen Körper aufgenommen  
und ist eine Quelle für die Versorgung mit einer essentiellen  
Aminosäure, L-Histidin. Es wird auch aus L-Histidin und  
β-Alanin biosynthetisiert. Das so in den Körper aufgenommene  
L-Carnosin wird mit der Hilfe von Carnosinase in L-Histidin  
30 und β-Alanin abgebaut, die als Nahrungsstoffe dienen. Gleich-  
zeitig wird ein Teil davon wieder zu L-Carnosin resyntheti-  
siert. Es gibt eine Zwischenstufe in der Biosynthese von  
L-Carnosin, die als β-Alanyl-1-methylhistidin (Anserin) be-  
kannt ist.

- 1 Die Tatsache, daß L-Carnosin ein ungefährlicher, nahrungs-  
mittelartiger Stoff ist, der nach seiner Aufnahme durch  
Carnosinase, welche in verschiedenen Organen vorhanden ist,  
abgebaut wird, stellt einen entscheidenden Unterschied zur  
5 Mehrzahl der auf dem Markt befindlichen Arzneistoffe dar, die  
in der Leber abgebaut werden und somit die Leberfunktion be-  
lasten.

- Die folgenden Ausführungen betreffen die Toxizität von  
10 L-Carnosin.

#### Akute Toxizität von L-Carnosin

- 15 L-Carnosin wird peritoneal und oral zur Prüfung seiner akuten  
Toxizität 5 Stunden nach der Gabe an eine Gruppe von 10 Mäu-  
sen in unterschiedlicher Dosierung verabreicht. Der Wert  
LD<sub>50</sub> wird nach dem Verfahren von Van der Waerden auf der  
Grundlage der nach 72 Stunden verendeten Mäuse berechnet.  
In dem Versuch wird L-Carnosin mit einer physiologischen  
20 Kochsalzlösung verdünnt, so daß seine Verabreichungskonzen-  
tration 0,1 bis 0,3 ml/10 g beträgt.

- Etwa 30 Minuten nach der peritonealen Verabreichung von  
15 000 mg/kg (LD<sub>100</sub>) L-Carnosin tritt eine Verminderung der  
25 Spontanbewegung auf, die von unregelmäßiger und verminder-  
ter Atmung begleitet ist. Frontale oder Ausbruchsreflexe  
werden jedoch nicht beobachtet. Stoßweises Anheben des Schwan-  
zes und Schüttelkrämpfe werden bei der Hälfte der Versuchs-  
tiere beobachtet. Bei weiterer Zunahme der Symptome wälzen  
30 sich die Tiere wiederholt in horizontaler Richtung und bei  
Berührungsstimulierung wird der Reflex hyperreaktiv mit  
anschließendem Krampf, was schließlich zum Verenden infolge  
von Entasie führt. Die Hälfte der Versuchstiere war nach  
90 Minuten, 80 % nach 2 Stunden und alle Versuchstiere nach  
35 5 Stunden verendet. Orale Gabe von 15 000 mg/kg L-Carnosin  
zeigte keine erkennbare Wirkung in dieser Hinsicht, eine  
Maus von 10 war jedoch nach 12 Stunden verendet.



Tabelle I

LD<sub>50</sub> von L-Carnosin

Dosierung	LD <sub>50</sub>	bei 95 % Zuverlässigkeit (mg/kg)
Peritoneal	9,087	(8,320 - 9,925)
Oral	>14,930 (letale Minimaldosis)	

Die vorstehende Tabelle beruht auf dem Test der akuten Toxizität von L-Carnosin an männlichen dd-Stamm-Mäusen (75 Stunden-Wert). Es läßt sich feststellen, daß L-Carnosin eine sehr niedrige Toxizität aufweist. Die Ungefährlichkeit von L-Carnosin ist bereits bekannt. Es wurde zur Behandlung von Anorexie oder Appetitmangel etwa 10 Jahre lang von Lisa Ltd. in Spanien hergestellt. Die wirksame Menge L-Carnosin beträgt bei transplantiertem Krebs 1 mg/Maus oder 50 mg/kg. Da dies 1/181 von 9,087 mg/kg der akuten Toxizität LD<sub>50</sub> entspricht, ist die Ungefährlichkeit von L-Carnosin ersichtlich.

Ein Verfahren zur Herstellung von L-Carnosin ist beispielsweise in Journal of Biological Chemistry, Bd. 108 (1935), S. 753 beschrieben. L-Carnosin wird durch Umwandlung von Carbobenzoxym-β-alanin mit Phosphorpentachlorid in sein Chlorid, Veresterung des Chlorids zum Methylester unter Verwendung von Methanol, Umwandlung in das Azid mit Stickstoffwasserstoffsäure, Kopplung des Azids mit L-Histidinmethylester und schließlich Abspaltung des Carbobenzoxymrestes durch katalytische Reduktion erhalten.

Physiologisch verträgliche Salze von L-Carnosin eignen sich ebenfalls für die Zwecke der Erfindung. Als Salze von L-Carnosin kommen Salze der Carboxylgruppe sowie Additionssalze mit physiologisch verträglichen Säuren am Aminorest in Frage. Auch Salze der Carboxylgruppe mit dem Aminorest sind geeignet.

1 Zu den Salzen der Carboxylgruppe gehören Metallsalze, wie  
Natrium-, Kalium-, Calcium-, Magnesium-, Zink-, Aluminium-,  
Ammonium- und substituierte Ammoniumsalze, wie Trialkylamin-  
5 salze z.B. das Triäthylaminsalz. Zu den Salzen der Amino-  
gruppe gehören Salze mit anorganischen oder organischen Säu-  
ren, wie Salzsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Essig-  
säure, Propionsäure, Milchsäure, Weinsäure, Citronensäure,  
Bernsteinsäure, Maleinsäure, Benzolsulfonsäure und Toluol-  
10 sulfonsäure. Diese Salze können nach bekannten Verfahren her-  
gestellt werden, beispielsweise durch Umsetzung von L-Carno-  
sin in freier Form mit der gewünschten Säure oder Base in  
stöchiometrischer Menge.

15 Nachstehend wird die Antitumor-Wirkung von L-Carnosin am  
Beispiel eines Versuchs erläutert.

Antitumor-Wirkung von L-Carnosin und OK-432 gegen ein Sarkom  
bei der Maus

20 Versuchstiere:

Fünf Wochen alte männliche DDY-Mäuse

Tumorzellen:

25 Sarcoma 180 (Stamm von Komiyama, Department of Cancer and  
Pathology, Institut of Kitazato).

Transplantation:

30  $5 \times 10^{-4}$  Zellen werden subkutan in den mittleren Scapular-  
Bereich transplantiert (1 Stunde, nachdem die Zellen vom Tu-  
mor getrennt wurden).

Verabreichung des Arzneimittels:

0,1 ml physiologische Kochsalzlösung wird subkutan am Rücken,  
etwa 2 cm vom Ort des Transplantats, bzw. subkutan am  
35 Intraperitoneum, 15 mal beginnend 48 Stunden nach der Trans-  
plantation und dann in Abständen von 48 Stunden an jedes

1 Vergleichstier verabreicht. An die Versuchstiere werden sub-  
kutan am Rücken, etwa 2 cm vom Ort des Transplantats in  
gleicher Weise wie vorstehend 1 mg L-Carnosin (bei alleini-  
ger Gabe), bzw. 0,2 mg, 1mg und 2 mg L-Carnosin (bei Ver-  
5 wendung zusammen mit OK-432), gelöst in 0,1 ml physiologi-  
sche Kochsalzlösung, verabreicht. Das OK-432 wird in einer  
Menge von 0,5 KE in 0,1 ml physiologische Kochsalzlösung den  
Versuchstieren in beiden Fällen in gleicher Weise wie vor-  
stehend gegeben.

10

Die Ergebnisse sind in Tabelle II zusammengefaßt.

15

20

25

30

35

35

30

25

20

15

10

5

-

Tabelle II

Wirkung der alleinigen Anwendung von L-Carnosin und der kombinierten Anwendung von L-Carnosin  
und OK-432 auf Sarcoma 180

Behandlung	Mittlere Über- <sup>(1)</sup> lebensdauer Tage	Anzahl der ver- <sup>(2)</sup> endeten Tiere (nach 60 Tagen)	Todesrate, % nach 60 Tagen	Regression <sup>(3)</sup>	Tumorgroße, <sup>(4)</sup> mm <sup>2</sup> (20 Tage)
Vergleich	29,2	12/12	100		545,8
L-Carnosin	1 mg	26,4	7/10	70	280,1
OK-432	0,5KE	29,8	10/12	83	427,3
OK-432	0,5KE			2	
+L-Carnosin	0,2 mg	32,6	10/10	100	423,4
OK-432	0,5KE				
+L-Carnosin	1 mg	29,7	6/13	46	177,8
OK-432	0,5KE			7*	
+L-Carnosin	2 mg	29,5	8/11	73	330,0

34224781

1 Bemerkungen zu Tabelle II:

- 5 (1) Die mittlere Überlebensdauer ist die Gesamtzahl der Le-  
benstage aller Versuchstiere, geteilt durch die Gesamt-  
zahl der Versuchstiere. Da die Fälle, bei denen Regression  
auftrat, von der Berechnung der mittleren Überlebensdauer  
ausgeschlossen sind, kann die Wirksamkeit des Arznei-  
stoffs dadurch festgestellt werden, daß die mittlere Über-  
lebensdauer mit den Regressionsfällen in Bezug gebracht  
wird.
- 10 (2) Die Anzahl der verendeten Tiere ist als Zahl der verende-  
ten Tiere/Zahl der Versuchstiere angegeben.
- 15 (3) "Regression" bedeutet, daß die Tumorzellen erfolgreich  
transplantiert wurden und deutlich zu einem Tumor makros-  
kopischer Größe wuchsen. Dann jedoch setzte Retraktion  
und schließlich Häutung ein und die Stelle konnte nicht  
länger unterschieden werden. Die Fälle von Regression in  
der Tabelle beziehen sich auf transplantierte Tumore, die  
durch Autopsie und histologische Prüfung 60 Tage nach der  
Transplantation nicht mehr von normalem Gewebe unterschie-  
den werden konnten.
- 20 Bei zwei von sieben Fällen wuchsen die transplantierten  
Tumorzellen nicht zu einem Tumor heran, sondern verschwanden,  
wie mikroskopische Beobachtung zeigte, aus dem trans-  
plantierten Bereich.
- 25 (4) Die Tumorgroße ist als größerer Durchmesser x kleinerer  
Durchmesser in mm<sup>2</sup> angegeben.

30 In den Figuren 1 und 2 ist die Versuchsdauer auf der horizon-  
talen Achse (1 bis 60 Tage) gegen die Zahl der überlebenden  
Tiere auf der vertikalen Achse in % aufgetragen.

Diskussion der Versuchsergebnisse:

35 Die Tabelle II und die Figuren 1 und 2 zeigen, daß L-Carnosin  
eine deutliche Antitumor-Wirkung auf transplantierten Krebs  
bei alleiniger Verabreichung besitzt. Bei der Gabe von

1 L-Carnosin in Verbindung mit OK-432 (ein übliches Arzneimittel für die Immunitätsbeschleunigung) zeigt sich noch stär-  
kere Antitumor-Wirkung. Diese Kombination ist wirksamer als  
5 die einzelne Gabe von entweder L-Carnosin oder OK-432, wobei  
diese Wirksamkeit insbesondere in Fällen von Regression  
deutlich wird. Daneben ist die Wirksamkeit auch an der Tumor-  
größe erkennbar. Der verwendete Sarcoma 180-Stamm gehört zu  
den am stärksten proliferativen Stämmen, die in Japan gehalten  
10 werden. Die in diesem Versuch bei einem derart kräftigen  
Tumorstamm gezeigte Inhibierung beweist die Antitumor-Wirkung  
von L-Carnosin.

15 Nach vorstehender Erläuterung ist die Anwendung von L-Carnosin  
selbst oder die kombinierte Anwendung von L-Carnosin und einem  
anderen Immunität-beschleunigendem Arzneimittel, wie OK-432  
wirksam gegen Krebs verschiedener Organe und gegen bösartige  
Geschwulste, wie maligne Neoplasien des Magen-Verdauungstrak-  
tes, Enddarmes, der Brust, des Uterus, der Mundhöhle, der  
20 Speiseröhre, der Galle, der Gallenwege (Cholangiome), des  
Pankreas, der Niere (Nephrome), der Prostata, der Lunge, des  
Gehirns, der Leber, der Zunge, sowie bösartige Strumata,  
Thymustumore, Epitheliomata und Sarcomata.

25 Der Arzneistoff mit Antitumorwirkung der Erfindung kann in  
üblicher Weise für orale Gabe oder nicht orale Verabreichung,  
beispielsweise als Injektionsflüssigkeit, Pulver, Granulat,  
Tabletten, Kapseln, in im Darm löslicher Form, als Salbe,  
Suppositorium oder Pastille hergerichtet werden. Der Arznei-  
stoff kann einzeln oder in Kombination mit anderen Wirkstof-  
30 fen gegeben werden, wobei der Zustand des Patienten die Tu-  
morart und Symptome beachtet werden. Die klinische Dosierung  
für Erwachsene beträgt aufgrund der Basisversuche 0,5 bis  
3,0 g oral pro Tag. Die Tagesdosis wird vorzugsweise unter-  
teilt im geeigneten Zeitabstand gegeben.  
35

1 Da L-Carnosin in Wasser leicht löslich ist, gibt es keine Schwierigkeiten bei der Herstellung isotonischer wäßriger Lösungen mit einem Gehalt an 3, 5 oder 10 % unter aseptischen Bedingungen. Die so hergestellten Lösungen werden  
5 unter Inertgas in Ampullen abgefüllt und unter Verwendung gewöhnlicher Spritzen injiziert. Es kann auch gefriergetrocknetes L-Carnosin, das sich unter aseptischen Bedingungen in Ampullen oder Fläschchen befindet zu Injektionszwecken verwendet werden. Dazu werden vor dem Gebrauch 3, 5 oder 10pro-  
10 zentige isotonische Lösungen hergestellt. In Form von Pulver, Granulat, Tabletten oder Kapseln zur oralen Gabe kann L-Carnosin in üblicher Weise unter Verwendung von Bindemitteln, wie Sirup, Gummi-arabicum, Gelatine, Sorbit, Tragacanth-  
15 gummi oder Polyvinylpyrrolidon, Trägerstoffen, wie Lactose, Maisstärke, Calciumphosphat, Sorbit oder Glycin, Gleitmitteln, wie Magnesiumstearat, Talg, Polyäthylenglykol, Hydroxypropylmethylcellulose oder Siliciumdioxid, Sprengmitteln, wie Kartoffelstärke, und Netzmitteln, wie Natriumlaurylsulfat, hergerichtet werden.

20 Tabletten können in bekannter Weise beschichtet werden. Salben werden in bekannter Weise durch Vermischen von feinpulvrigem L-Carnosin in einer Menge, die zur gewünschten Konzentration in der fertigen Salze führt, mit einer Salbengrundlage,  
25 wie gebleichtes Bienenwachs, Walwachs, wasserfreies Lanolin, weißes Petrolatum, höhere Alkohole, Macrogole oder Plastikbase (Salbengrundlage auf Kohlenwasserstoff-Gel-Basis, hergestellt von Taisho Pharmaceutical), hergestellt. Dabei werden hydrophile Salben, wasserabsorbierende Salben oder Gemische  
30 davon erhalten. Gewünschtenfalls können Öle, wie Sesamöl, Erdnußöl oder Olivenöl, harzartige Stoffe, Glycerin, Propylen-glykol, Netzmittel, Germizide, Fungizide oder Antioxidantien zugesetzt werden. Das so erhaltene Gemisch wird zur Herstellung von L-Carnosin-Salbe gleichmäßiger Qualität geknetet.  
35 Suppositorien werden in nahezu der gleichen Weise wie Salben hergestellt. Beispielsweise können sie durch Zusatz von anti-

1 septisch wirkenden Stoffen und L-Carnosin zu einer geschmolzenen Suppositorium-Grundlage, sorgfältiges Mischen und Gießen des Gemisches in eine Form, sowie Entnehmen aus der Form nach der Verfestigung erhalten werden.

5 Nachstehend sind verschiedene Zubereitungen angegeben, in denen L-Carnosin als Hauptwirkstoff verwendet wird.

### Zubereitungsbeispiel 1 (Injektionslösung)

10 Unter aseptischen Bedingungen wird synthetisches L-Carnosin in wäßrigen isotonischen Lösungen mit einer Konzentration von 3, 5 bzw. 10 % hergerichtet, die in Ampullen zur Injektion abgefüllt wird.

### 15 Zubereitungsbeispiel 2 (Granulat)

Es wird ein Granulat folgender Zusammensetzung hergestellt:

<u>Bestandteil</u>		<u>g</u>
20	L-Carnosin	0,2
	Lactose	0,34
	Maisstärke	0,45
	Hydroxypropylmethylcellulose	<u>0,01</u>
	Granulat	1,00

### 25 Zubereitungsbeispiel 3 (Salbe)

Unter Verwendung von synthetischem L-Carnosin und einer Salbengrundlage auf Kohlenwasserstoff-Gel-Basis wird eine Salbe  
30 mit einem Gehalt von 5 % hergestellt.

<u>Bestandteil</u>		<u>g</u>
	L-Carnosin	5,0
	Salbengrundlage	<u>95,0</u>
	Salbe	100,0



1 Zubereitungsbeispiel 4 (Suppositorium)

Unter Verwendung von synthetischem L-Carnosin und Hosco S-55  
(Suppositorium-Grundlage von Maruishi Pharmaceutical) werden  
5 Suppositorien hergestellt.

<u>Bestandteil</u>	<u>g</u>
L-Carnosin	0,2
p-Oxyäthylbenzoat	0,00085
10 Hosco S-55	1,5 (pro Suppositorium)

Zur Herstellung der Suppositorien werden L-Carnosin und  
p-Oxyäthylbenzoat durch ein Sieb mit einer Maschenweite von  
0,075 mm gesiebt und nach und nach zu der bei 50°C geschmolze-  
15 nen Suppositorium-Grundlage gegeben. Dabei wird ein einheit-  
liches Gemisch erhalten, das bei 38°C in eine Form gegossen  
und nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur im Kühlschrank ge-  
härtet wurde. Das so erhaltene Produkt wird aus der Form ent-  
nommen und in Paraffinpapier verpackt.

20

Der die Lebensdauer verlängernde Effekt, die Regressionswir-  
kung von L-Carnosin und die synergistische Wirkung von L-Car-  
nosin mit dem Potentiator OK-432, wurde zunächst an transplan-  
tierten Krebszellen von Sarcoma 180 an DDY-Mäusen nachgewie-  
25 sen. Die heilende Wirkung von L-Carnosin wurde sodann auch  
durch lokale Gabe als Suppositorium in drei Fällen von  
squamösem Zervix-Zellkarzinom gezeigt. Die drei Fälle sind  
nachstehend als klinische Beispiele für die Therapie mit  
L-Carnosin aufgeführt.

30

Die bei der Behandlung verwendeten Suppositorien enthalten  
200 mg L-Carnosin pro Suppositorium (1,7 g).

Die zytologischen Befunde werden nach folgender Klassifizie-  
35 rung angegeben:

1 Klasse I : Abwesenheit von atypischen oder anormalen Zellen

Klasse II : Atypische Zytologie, jedoch kein Hinweis auf Bösartigkeit.

5

Klasse III : Zytologische Hinweise auf Bösartigkeit, die jedoch nicht zweifelsfrei sind (die Klasse III ist weiter in Klasse IIIa und Klasse IIIb unterteilt. IIIa liegt nahe bei Gutartigkeit, während sich IIIb der Bösartigkeit nähert.)

10

Klasse IV : Verdacht auf starke Bösartigkeit.

Klasse V : Eindeutig bösartig.

15

### Fall I

Patient : ♀ 56 Jahre

Pathologische Gewebediagnose : squamöses Zervix-Zellkarzinom

20

Zytoskopie : Uterocervicalkanal: Klasse V  
Portio vaginalis Uteri: Klasse V

Therapie : Die Behandlungen werden nach folgenden zwei Plänen durchgeführt:

25

1) Behandlungen als ambulanter Patient.

Ein L-Carnosin enthaltendes Suppositorium wird einmal täglich oder jeden zweiten Tag in die Scheide in die Nähe des Gebärmutterhalskanals und der Portio vaginalis Uteri eingeführt.

30

2) 100 Rad. Kobalt 60 Focuss-Bestrahlung auf einem Bestrahlungsfeld von 12 cm<sup>2</sup> von vorne und hinten einmal täglich oder jeden zweiten Tag.

35

1 Verlauf der Therapie:

1. Tag: Am 1. Tag der Behandlung (28 Tage nach der ersten  
Diagnose) wird mit der Bestrahlung mit Kobalt 60  
von vorne und hinten begonnen. Ein Suppositorium  
wird eingeführt.
3. Tag: Am ersten Tag der Diagnose wird eine Blutung mitt-  
lerer Quantität aus dem Geschlechtsorgan beobach-  
tet, die jedoch 2 Tage nach der Verabreichung von  
Suppositorien aufhört.
45. Tag: Keinerlei Blutung aus der Scheide.  
Örtliche Erosion wird festgestellt, jedoch keine  
Abnormalität des Anhangs.  
Zytoskopie: Uterocervickanal: Klasse II  
Portio vaginalis Uteri: Klasse II
- Die Focusbestrahlung mit Kobalt 60 beträgt bis zu  
diesem Zeitpunkt 4650 Rad. und es waren 20 Suppo-  
sitorien genommen worden. Die Gesamtverabreichung  
an L-Carnosin beträgt 4000 mg.
63. Tag: Die Bestrahlung mit Kobalt 60 wird abgeschlossen.  
Da später eine Ralstron-Therapie (Einsetzen eines  
Stücks Radium in die Endocervix) am National  
Cancer Center Research Institute durchgeführt wer-  
den sollte, wurde Fortführung der Behandlung mit  
Suppositorien beschlossen.
69. Tag: Zytoskopie: Uterocervickanal: Klasse II  
Portio vaginalis Uteri: Klasse IIIa  
Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin: 6200 mg (31 x)
83. Tag: Die Diagnose am National Cancer Center-Research  
Institute besagt, daß die Ergebnisse der Therapie  
befriedigend sind, und daß in zwei Wochen entschie-  
den werden wird, ob Ralstron-Therapie erforderlich  
ist. Es wird die Fortsetzung der alleinigen Be-  
handlung mit Suppositorien beschlossen.
98. Tag: Zytoskopie: Uterocervickanal: Klasse I  
Portio vaginalis Uteri: Klasse I  
Der Zustand des Patienten wird als geheilt angese-  
hen; es wird jedoch Fortsetzung der Therapie mit

- 1 1 Suppositorium pro Tag beschlossen.  
Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin: 9400 mg (47 x)
114. Tag: Die Diagnose am National Cancer Center Research  
Institute zeigt eine weitere Besserung der Symptome  
5 seit der Diagnose am 83. Tag. Ralstron-Therapie  
wird für nicht notwendig erachtet.
136. Tag: Zytoskopie: Uterocervicalkanal: Klasse I  
Portio vaginalis Uteri: Klasse I  
Danach zeigt wöchentliche Diagnose hervorragende  
10 Zytoskopieergebnisse. Der Patient ist geheilt. Ver-  
abreichung von 1 Suppositorium pro Tag und Beobach-  
tung werden jedoch fortgesetzt.
176. Tag: Zytoskopie: Uterocervicalkanal: Klasse I  
Portio vaginalis Uteri: Klasse I  
15 Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin: 25 000 mg  
(125 x)
- Da sich der erkrankte Bereich sehr gut erholt, wird  
Fortsetzung der Überwachung, jedoch ohne histologi-  
sche Gewebsprüfung beschlossen, um Gewebsverletzun-  
20 gen durch Probenentnahme zu vermeiden. Der Patient  
wird angewiesen, die wöchentliche Untersuchung fort-  
zuführen und bei der Diagnose ein Suppositorium zu  
nehmen.
403. Tag: 305 Tage sind seit der Beurteilung des Patienten als  
25 geheilt vergangen. Die Zytoskopieergebnisse waren  
kontinuierlich in Klasse I. Der Patient wird angewie-  
sen, die wöchentliche Untersuchung und die Einnah-  
me eines Suppositoriums bei der Diagnose fortzuset-  
zen. Die Beobachtung wird fortgeführt.
- 30 Gesamteinnahme an L-Carnosin bis zur Heilung:  
9400 mg (47 x)  
Bestrahlung mit Kobalt 60. 4650 Rad.  
Seit der Heilung sind 26 Monate vergangen und die  
Gewebsuntersuchungen ergaben stets Klasse I. Die  
35 Beobachtung wird fortgesetzt.

1 Fall II

Patient : ♀ 47 Jahre  
 Pathologische Gewebediagnose: Squamöses Zervix-Zellkarzinom  
 5 Zytoskopie : Uterocervicalkanal: Klasse V  
 Portio vaginalis Uteri: Klasse V  
 Behandlung : Die Behandlung erfolgt als ambulanter Patient. L-Carnosin wird in einer Menge von 200 mg x 2 pro Tag oder jeden 2. Tag gegeben. Zusätzlich wird mit Kobalt 60 wie im  
 10 Fall I bestrahlt.

## Therapieverlauf:

15 1. Tag : Behandlungsbeginn mit Suppositorien 3 Tage nach der Diagnose.  
 9. Tag : Beginn der Bestrahlung mit Kobalt 60  
 20. Tag : Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin:  
 6 400 mg (16 x)

## Zytoskopie:

20 Uterocervicalkanal: Klasse V  
 Portio vaginalis Uteri: Klasse V  
 Die Erscheinung befindet sich "in bösartigem Zustand".

25 46. Tag : Zytoskopie:  
 Uterocervicalkanal: Klasse V  
 Portio vaginalis Uteri: Klasse V  
 Pathologische Gewebediagnose:  
 Es werden viele kollabierende Zellen festgestellt, es ist jedoch auch noch eine  
 30 nennenswerte Zahl unveränderter maligner Zellen übrig.

56. Tag : Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin:  
 8 000 mg (20 x)  
 Focusbestrahlung mit Kobalt 60: 6000 Rad  
 35 Pathologische Diagnose:  
 Obwohl sich viele Zellen vermehrt hatten

1 sind zahlreiche andere zerstört und nur  
schwierig zu identifizieren. Es sind offen-  
sichtlich keine Krebszellen sondern entzündete Zellen.

5 70. Tag : Zytoskopie:  
Uterocervicalkanal: Klasse I  
Portio vaginalis Uteri: Klasse II

Pathologische Diagnose:

Krebszellen sind nicht nachzuweisen.

10 Es werden offensichtlich maligne und un-  
proliferierte flache Epithelzellen festge-  
stellt. Andere Zellen sind geschwollen mit  
verändertem Gewebe.

15 Die Focusbestrahlung mit Kobalt 60 beträgt  
zu diesem Zeitpunkt 7350 Rad.

Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin:

18 800 mg (47 x).

Der Krebs ist nach 70 Tagen geheilt.

88. Tag : Zytoskopie:

20 Uterocervicalkanal: Klasse I  
Portio vaginalis Uteri: Klasse II

Der Patient zeigt deutliche Besserung;  
weitere Beobachtung ist jedoch erforderlich.

25 21 Monate nach der Heilung zeigt die Zytos-  
kopie von Uterocervicalkanal und  
Portio vaginalis Uteri die Klasse I. Im Uterus-  
Anhang werden keine Besonderheiten festge-  
stellt.

### 30 Fall III

Patient : ♀ 71 Jahre

Pathologische Gewebediagnose: Squamöses Zervix-Zellkarzinom

35 Zytoskopie : Uterocervicalkanal: Klasse V  
Portio vaginalis Uteri: Klasse V

1 Therapie : Behandlung als stationärer Patient.  
L-Carnosin-Dosierung: 200 mg/Tag.  
Bestrahlung mit Kobalt 60 wie im Fall I

5 Therapieverlauf:

1. Tag : Beginn der Behandlung mit L-Carnosin und  
Bestrahlung mit Kobalt 60 (42 Tage nach der  
ersten Diagnose).

28. Tag : Pathologische Diagnose:  
10 Weder maligne Symptome noch Krebszellen wer-  
den festgestellt. Da überhaupt keine malign-  
nen Zellen vorhanden sind, wird der Patient  
als geheilt betrachtet. Die Beobachtung wird  
fortgesetzt.

15 Gesamtmenge verabreichtes L-Carnosin:  
5600 mg (28 x)  
Focusbestrahlung mit Kobalt 60: 4200 Rad.

Zusammenfassung:

20

Die drei Fälle lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

Fall-Nr.	Gesamtmenge verabreich- tes L-Carnosin	Gesamte Bestrah- lung mit Kobalt 60	Tage, bis der Patient als geheilt beurteilt wird
25 I	9 400/mg/47 mal	4650 Rad	98 Tage
II	18 800 mg/47 mal	7350 Rad.	70 Tage
III	5 600 mg/28 mal	4200 Rad	28 Tage

30 Die Therapie mit 200 mg L-Carnosin, verabreicht täglich oder je-  
den zweiten Tag als Suppositorium, ergibt zusammen mit der Be-  
strahlung mit Kobalt 60 eine bemerkenswerte Wirkung auf  
squamoses Zervix-Zellkarzinom.

35 Es läßt sich nicht mit Sicherheit feststellen, ob die Bestrah-  
lung mit Kobalt 60 oder die Behandlung mit L-Carnosin den

Hauptanteil an den therapeutischen Wirkungen in den erwähnten Fällen hat. Allgemeine und wissenschaftliche Erfahrung macht es jedoch unwahrscheinlich, daß indirekte Bestrahlung des Bauches mit Kobalt 60 die beobachteten Wirkungen auf squamöses Zervix-Zellkarzinom in den angegebenen Fällen hervorruft. Bestrahlung mit Kobalt 60 inhibiert zwar die Proliferation von Krebszellen, vermindert jedoch gleichzeitig die vitale Abwehrimmunität und die Reintegrationsfunktionen. Daraus ergibt sich, daß Kobalt 60 nicht die in den erwähnten Fällen beobachtete Heilung von Krebsgeschwüren verursachen kann.

Die Verabreichung von L-Carnosin fördert die physiologische Abwehrwirkung durch seine aktive Granulierung beschleunigende Wirksamkeit, durch die diese Hindernisse überwunden werden. L-Carnosin wirkt also antitumorigen und heilt Krebsgeschwüre. Bestrahlung mit Kobalt 60 kann dabei Hilfestellung leisten. Die in den genannten Fällen beobachteten Heilungen sind somit zum großen Teil auf die Krebs-inhibierende und die die physiologische Abwehr reaktivierende Wirkung des L-Carnosins zurückzuführen.

Da die Antitumorwirkung von allein verabreichtem L-Carnosin bereits durch Versuche mit transplantierten Krebszellen nachgewiesen wurde, lassen sich die in den genannten klinischen Fällen beobachteten Heilungen mit großer Wahrscheinlichkeit der Wirkung des L-Carnosins zurechnen.

Bei Krebs proliferieren die Zellen über der Schwelle der physiologischen Abwehrwirkungen. Um Krebs zu heilen, ist deshalb eine künstliche Stärkung der physiologischen Abwehrwirkungen erforderlich. Deshalb ist die Antitumorwirkung von L-Carnosin grundsätzlich nicht auf die Behandlung von squamösem Zervix-Zellkarzinom beschränkt, sondern auch auf Krebserkrankungen irgendwelcher anderer Organe anwendbar.



Numm r:

34 24 781

Int. Cl.<sup>3</sup>:

A 61 K 37/02

Anmeldetag:

5. Juli 1984

Offenlegungstag:

17. Januar 1985

- 22 -

- 23 -

FIG. 1

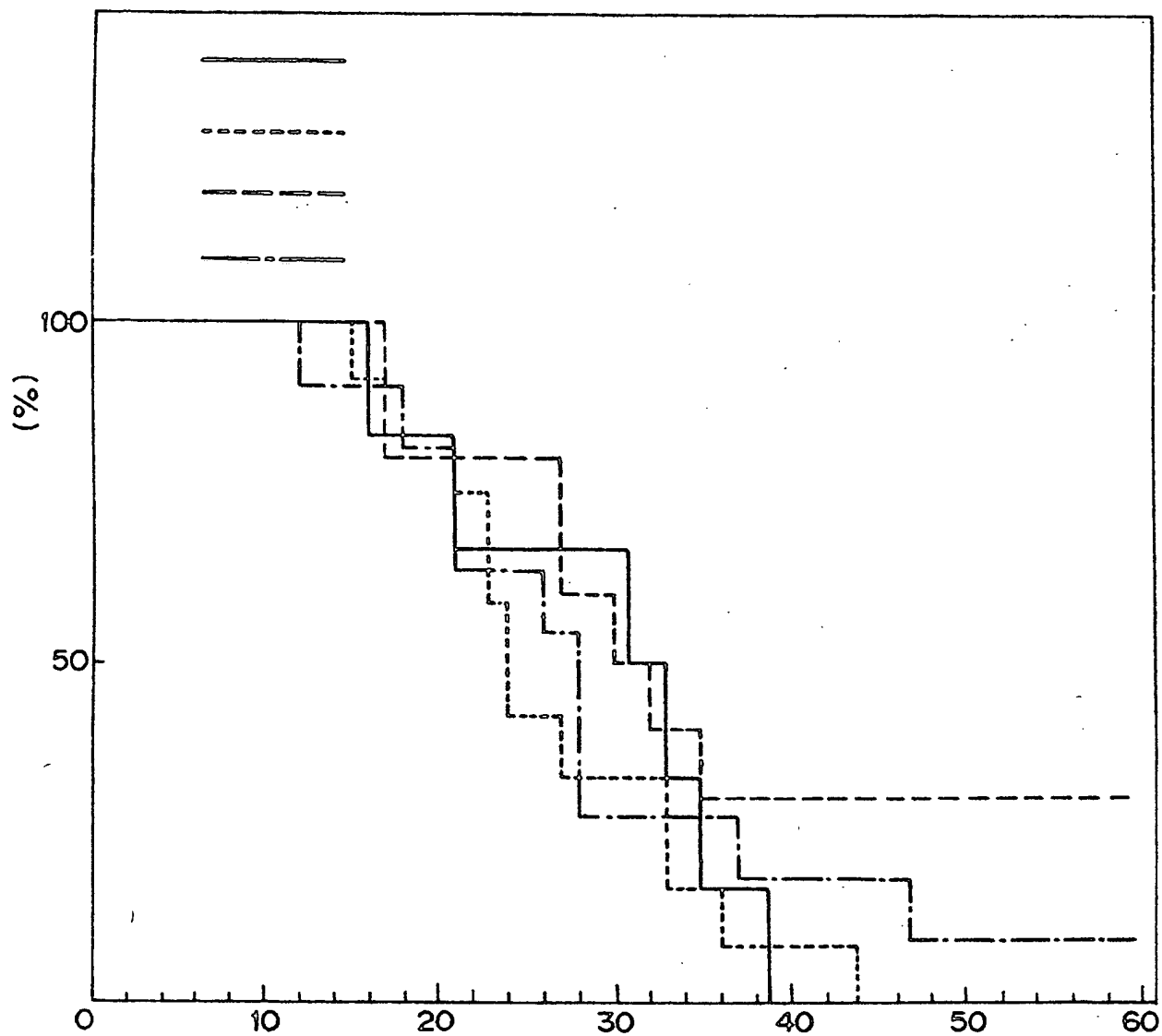


FIG. 2

